DOI: 10.22122/jims.v35i459.9227 Published by Vesnu Publications

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و پنجم/شماره‌ی ۴۵۹/هفته‌ی سوم بهمن ماه ۱۳۹۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۹/۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۶

جهش اکتسابی تیروزین کیناز JAK2 V617F در بیماری‌های Myeloproliferative مزمن ABL-BCR منفی در یک جمعیت از استان آذربایجان غربی

مرتضی باقری[۱]، عیسی عبدی‌راد[۲]، داود ملکی[۳]، علی عیشی[۳]، نسیم ولی‌زاده[۳]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: بیماری‌های Myeloproliferative مزمن یک عنوان کلی برای بیماری‌های کلونال هماتوپوئتیک است و در نتیجه‌ی تغییر شکل سلول‌های اجدادی خون‌ساز چند استعداده به وجود می‌آید که در نهایت، منجر به افزایش تولید در یک یا چند رده‌ی سلول خونی می‌گردد. شناسایی جهش نقطه‌ای JAK2 V617F یک کشف مهم در زمینه‌ی نئوپلاسم‌های Myeloproliferative مزمن است. این مطالعه به منظور تعیین فراوانی این جهش در افراد مبتلا به بیماری‌های Myeloproliferative مزمن ABL-BCR منفی در استان آذربایجان غربی انجام شد.

روش‌ها: در این مطالعه، ۴۳ نفر از بیماران با تشخیص نئوپلاسم‌های Myeloproliferative مزمن ABL-BCR منفی مشارکت داشتند. از روش‌های Amplification-refractory mutation system-polymerase chain reaction (ARMS-PCR) و Allele-specific oligonucleotide-real time-PCR (ASO-RT-PCR) برای تعیین جهش مورد نظر استفاده شد.

یافته‌ها: در این مطالعه، جهش اکتسابی تیروزین کیناز JAK2 V617F در ۳۳ نمونه (۷۶/۷۴ درصد) از بیماران مبتلا به نئوپلاسم‌های Myeloproliferative مزمن ABL-BCR منفی یافت شد. در این بررسی، جهش اکتسابی تیروزین کیناز JAK2 V617F درکل نمونه‌ها، توسط هر دو روش تعیین شد.

نتیجه‌گیری: جهش اکتسابی تیروزین کیناز JAK2 V617F در طیف وسیعی از بیماران مبتلا به نئوپلاسم‌های Myeloproliferative مزمن ABL-BCR منفی در استان آذربایجان غربی دیده می‌شود. تعیین جهش اکتسابی تیروزین کیناز JAK2 V617F از طریق روش‌های مولکولی ARMS-PCR وASO-RT-PCR برای تأیید تشخیص بالینی بیماری و مدیریت بیماران و روش‌های درمانی، با هزینه‌های پایین در مدت زمان اندک مؤثر می‌باشد.

واژگان کلیدی: بیماری Myeloproliferative، جهش اکتسابی تیروزین کینازی، JAK2 V617F

ارجاع: باقری مرتضی، عبدی‌راد عیسی، ملکی داود، عیشی علی، ولی‌زاده نسیم. **جهش اکتسابی تیروزین کیناز JAK2 V617F در بیماری‌های Myeloproliferative مزمن ABL-BCR منفی در یک جمعیت از استان آذربایجان غربی.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۶؛ ۳۵ (۴۵۹): ۱۷۸۵-۱۷۹۱

مقدمه

بیماری‌های Myeloproliferative مزمن یک عنوان کلی برای بیماری‌های کلونال هماتوپوئتیک است و در نتیجه‌ی تغییر شکل سلول‌های اجدادی خون‌ساز چند استعداده به وجود می‌آید که در نهایت، منجر به افزایش تولید در یک یا چند رده‌ی سلول خونی می‌گردد. این بیماری‌ها، عبارت از لوسمی میلوئید مزمن، ترومبوسیتمی اولیه، پلی‌سیتمی ورا و میلوفیبروز اولیه می‌باشند (۱).

شناسایی جهش نقطه‌ای JAK2 V617F، یک کشف مهم در زمینه‌ی نئوپلاسم‌های Myeloproliferative مزمن است. این جهش اکتسابی، به علت جابه‌جایی نوکلئوتید T با G در نوکلئوتید ۱۸۹۴ در اگزون شماره‌ی ۱۲ از ژن JAK2 ایجاد می‌شود که در نهایت، منجر به جایگزینی والین با فنیل‌آلانین در اسید آمینه‌ی شماره‌ی ۶۱۷ از پروتئین JAK2 می‌گردد. جانوس‌کیناز، ۴ دومین شامل دومین N که با گیرنده‌های سیتوکاینی برهم‌کنش دارد، دومین SH2، دومین

۱- استادیار، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران
۲- استاد، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران
۳- متخصص خون و انکولوژی، بخش هماتولوژی و انکولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: عیسی عبدی‌راد
Email: isaabdirad@yahoo.com

پسودوکیناز JH2 و دومین JH1 دارد (۲).

این جهش، در دومین پسودوکیناز JH2 به وقوع می‌پیوندد و نقش آن محدود نمودن فعالیت کینازی است و حاصل این فرایند، باعث افزایش حساسیت به اریتروپویتین و رشد مستقل از عوامل رشد می‌شود (۳).

گروه جانوس‌کیناز، ۴ عضو دارد که عبارت از JAK2 ،JAk3 JAK1 و TYk می‌باشند (۴). پروتئین‌های این گروه به تیروزین کینازهای بدون گیرنده‌ای تعلق دارند که همراه با پروتئین انتقال دهنده‌ی پیام درون سلولی STAT1 نقش مهمی را در انتقال پیام درون سلولی بر عهده دارند (۵). پروتئین JAK2 به قسمت سیتوپلاسمی گیرنده های مختلف سیتوکاینی نظیر عامل رشد، لپتین و اریتروپویتین متصل است (۶).

این جهش در ۹۷ درصد از بیماران مبتلا به پلی‌سیتمی‌ورا (۷)، ۶۰-۳۰ درصد از بیماران مبتلا به ترومبوسیتمی اساسی (۸) و ۵۷-۳۵ درصد از بیماران مبتلا به میلوفیبروز نامشخص یافت می‌شود (۹). این جهش در سایر بیماری‌ها نیز دیده می‌شود که عبارت از لنفوم مدیاستن، لوسمی لنفوبلاستیک، لوسمی حاد همراه با سندرم داون، لوسمی ائوزینوفیلی مزمن، لوسمی نوتروفیلی مزمن و سایر اختلالات Myeloproliferative و میلودیس‌پلاستیک (۱۲-۱۰) می‌باشند.

علایم بالینی نئوپلاسم‌های میلوپرولیفراتیو مزمن عبارت از خون‌سازی خارج از کنترل از مغز استخوان، اسپلنومگالی، تبدیل به لوسمی حاد، وقوع فیبروز در مغز استخوان، بروز وقایع ترومبوتیک و خون‌ریزی دهنده (۱۵-۱۳) می‌باشند. بر اساس معیارهای سازمان بهداشت جهانی، ارزیابی جهش JAK2 V617F در تمام بیماران کاندیدا به پلی سیتمی ورا، میلوفیبروز اولیه و ترومبوسیتمی اساسی ضرورت دارد. انجام این روش در کنار سایر اطلاعات به دست آمده از ارزیابی‌های بالینی، تشخیص قطعی بیماری را در بسیاری از موارد مشکوک به ویژه در تشخیص‌های افتراقی پلی‌سیتمی‌های ثانویه از پلی سیتمی ورا و ترومبوسیتوزهای واکنشی از ترومبوسیتمی اساسی امکان پذیر می‌سازد (۱۶). این جهش در بیماران مبتلا به بیماری لوسمی میلوئیدی مزمن، بدخیمی‌های غیر خونی، لوسمی‌های حاد و مزمن لنفوئیدی، لنفوم‌های هوچکینی (Hodgkin lymphoma) و غیر هوچکینی وجود ندارد. بنابراین، در رد تشخیص‌های مشکوک نیز کمک کننده است (۱۸-۱۷).

با توجه به فقدان اطلاعات منطقه‌ی مورد مطالعه، این پژوهش به منظور راه‌اندازی روش‌های مولکولی Amplification-refractory mutation system-polymerase chain reaction (ARMS-PCR) و Allele-specific oligonucleotide-real time-PCR (ASO-RT-PCR) برای تشخیص جهش اکتسابی تیروزین کیناز JAK2 V617F و تعیین فراوانی آن در بیماران مبتلا به بیماری‌های Myeloproliferative مزمن ABL-BCR منفی در استان آذربایجان غربی انجام شد.

روش‌ها

پس از تصویب طرح مقطعی توصیفی حاضر در معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، مجوزهای لازم با شماره‌ی IR.umsu.rec.1395.191 از کمیته‌ی اخلاق در پژوهش‌های زیست‌پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه اخذ شد.

۴۳ نفر از بیماران مراجعه کننده به بخش خون و انکولوژی بیمارستان آموزشی- درمانی امام خمینی (ره) ارومیه با تشخیص نئوپلاسم‌های Myeloproliferative مزمن ABL-BCR منفی و نیز در ارزیابی‌های اولیه‌ی پزشکی، پس از دارا بودن شرایط لازم در این طرح وارد شدند. بیماری در کلیه‌ی بیماران توسط یک هماتولوژیست بالینی تشخیص داده شد.

در بیماران مورد مطالعه، تشخیص ترومبوسیتوز اساسی با وجود ترومبوسیتوز با یا بدون اسپلنومگالی یا لکوسیتوز و رد سایر علل ترومبوسیتوز نظیر فقر آهن و بیماری التهابی داده شد و تشخیص میلوفیبروز با شمارش سلولی غیر طبیعی و Lactate dehydrogenase (LDH) بالا و وجود فیبروز در مغز استخوان و یافته‌های لکواریتروبلاستیک در خون محیطی (وجود سلول‌های قرمز هسته‌دار و سلول‌های قطره اشکی و شیفت به چپ و سلول‌های نارس میلوئیدی) و رد سایر علل فیبروز مغز استخوان نظیر سل و سرطان‌های متاستاتیک و لوسمی سلول مویی انجام شد و تشخیص پلی‌سیتمی ورا با وجود اریتروسیتوز به همراه یافته‌هایی نظیر لکوسیتوز ترومبوسیتوز اسپلنومگالی و رد علل ثانویه‌ی اریتروسیتوز مثل بیماری‌های تنفسی و هیپوکسی و غیره داده شد (۱۹).

بیماران بر اساس معیارها و شرایط ورود و با داشتن رضایت‌نامه‌ی آگاهانه به صورت ساده و آسان انتخاب شدند. از هر بیمار خون محیطی به میزان ۳-۲ میلی‌لیتر در لوله‌ی حاوی Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) به عنوان ماده‌ی ضد انعقاد خون جمع‌آوری شد. از خون محیطی بیماران، DNA ژنومی با استفاده از روش نمک اشباع استخراج شد و در مورد RNA کامل (Total)، از محلول فنل- گوانیدین و کیت اختصاصی استخراج RNA به نام RNX- Plus(Cat. No.: RN7713C) استفاده شد.

کیفیت DNAی ژنومی و RNAی استخراج شده توسط دستگاه بیوفوتومتر ارزیابی گردید. نسبت جذب در طول موج ۲۶۰ لاندا به ۲۸۰ لاندا برای نمونه‌های مورد مطالعه بیش از ۱/۸ بود. ۲ میکرولیتر از RNAی استخراج شده با استفاده از کیت (Thermo Fisher Scientific Inc.

جدول ۱. ناحیه‌ی مورد مطالعه، توالی پرایمرهای مورد استفاده، طول قطعه، نوع روش و برنامه‌ی Polymerase chain reaction (PCR) (۲۰)

ناحیه	توالی پرایمر (′۳—′۵)	طول قطعه/نوع روش	برنامه‌ی PCR
پرایمر Forward بیرونی	tcctcagaacgttgatggcag	۴۶۳ باز (شاهد)/ ARMS-PCR	۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد ۴۰ ثانیه
پرایمر Reverse بیرونی	attgctttccttttcacaagat	۲۹۷ باز (جهش‌دار) /ARMS-PCR	۵۶ درجه‌ی سانتی‌گراد ۴۵ ثانیه
پرایمر اختصاصی آلل طبیعی	gcatttggttttaaattatggagtatatg		۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد ۴۵ ثانیه
پرایمر اختصاصی آلل جهش‌دار	gttttacttactctcgtctccacaaaa		(۴۰ چرخه)
پرایمر Forward	gaagatttgatatttaatgaaagcctt	۴۸۸ باز (شاهد) /ASO-RT-PCR	
پرایمر Reverse	gtaatactaatgccaggatcactaagtt	۲۹۵ باز (جهش‌دار) /ASO-RT-PCR	
پرایمر اختصاصی آلل جهش‌دار	agcatttggttttaaattatggagtatatt		

ARMS-PCR: Amplification-refractory mutation system-polymerase chain reaction; ASO-RT-PCR: Allele-specific oligonucleotide-real time-PCR

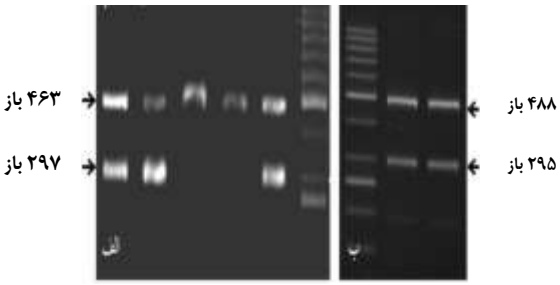
Thermo Scientific RevertAid First Strand cDNA Synthesis و مطابق با راهنمای کیت با اندکی تغییرات به complementary DNA (cDNA) تبدیل شد. سپس، در ناحیه‌ی مورد نظر با استفاده از جفت پرایمرهای اختصاصی واکنش‌های پلی‌مرازی به دو روش مورد نظر این مطالعه در دستگاه PCR انجام شد.

واکنش‌های PCR در میکروتیوب ۰/۲ میلی‌لیتر در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر شامل Deoxynucleoside triphosphate (dNTPs) با غلظت ۲۰۰ میکرومول، آنزیم پلی‌مرازی Taq ۰/۳ میکرولیتر، ۰/۷۵ میکرولیتر کلرید منیزیم ($MgCl_2$) با غلظت ۵۰ میلی‌مولار، DNA در حدود ۵۰ نانوگرم، ۰/۵ میکرولیتر از هر پرایمر با غلظت ۵ پیکومول و در نهایت، بافر ۱۰X به میزان ۲ میکرولیتر برای هر واکنش بهینه‌سازی گردید (سیناژن، PCR Master kit، ایران). توالی پرایمرها، طول قطعه‌ی تکثیر یافته، نوع PCR و برنامه‌ی آن در جدول ۱ آمده است (۲۰).

محصولات حاصل از PCR روی ژل آگارز ۲/۵ درصد حاوی Safe stain (سیناکلون، ایران) آنالیز گردید. بعد از الکتروفورز، ژل حاصل تحت اشعه‌ی Ultraviolet (UV) لامپ Transilluminator بررسی شد و نتایج به لحاظ وجود یا عدم وجود باندهای مورد نظر، ثبت و تفسیر گردید. در این مطالعه، از روش‌های ARMS-PCR و ASO-RT-PCR برای تعیین جهش مورد مطالعه استفاده شد.

یافته‌ها

در این مطالعه، ۴۳ بیمار مبتلا به نئوپلاسم‌های Myeloproliferative مزمن ABL-BCR منفی ارزیابی شدند و جهش اکتسابی تیروزین کیناز JAK2 V617F در ۷۶/۷۴ درصد از نمونه‌ها، معادل ۳۳ نفر از بیماران مبتلا به نئوپلاسم‌های Myeloproliferative مزمن ABL-BCR منفی ارجاعی به بخش ژنتیک یافت شد. میانگین سنی بیماران مورد نظر، ۴۰ سال بود. در این بررسی، جهش اکتسابی تیروزین کیناز JAK2 V617F در کل نمونه‌ها، توسط هر دو روش ARMS-PCR و ASO-RT-PCR تعیین شد. شکل ۱، آنالیز الکتروفورزی جهش اکتسابی تیروزین کیناز JAK2 V617F را در تعدادی از نمونه‌ها نشان می‌دهد.



شکل ۱. الف) تصویر باندهای حاصل در آنالیز جهش اکتسابی تیروزین کیناز JAK2 V617F به روش Amplification-refractory mutation system-polymerase chain reaction (ARMS-PCR) در بیماران مبتلا به نئوپلاسم‌های Myeloproliferative مزمن BCR-ABL منفی ارجاعی به بخش ژنتیک باند به طول ۴۶۳ باز به عنوان باند شاهد و باند به طول ۲۹۷ باز نشان دهنده‌ی وجود جهش اکتسابی تیروزین کیناز JAK2 V617F در نمونه می‌باشد.

ب) تصویر باند های حاصل در آنالیز جهش اکتسابی تیروزین کیناز JAK2 V617F به روش ASO-RT-PCR در بیماران مبتلا به نئوپلاسم های میلوپرولیفراتیو مزمن bcr-abl منفی ارجاعی به بخش ژنتیک باند بطول ۴۸۸ باز به عنوام کنترل و باند به طول ۲۹۵ باز نشاندهنده وجود جهش اکتسابی تیروزین کیناز JAK2 V617F در نمونه می باشد.

در هر دو ژل ماکر ۵۰ بازی (فرمنتاس) بکار رفته است.

بحث

در این مطالعه، ۴۳ بیمار مبتلا به نئوپلاسم‌های Myeloproliferative مزمن ABL-BCR منفی ارزیابی شد و برای تعیین حضور یا عدم حضور جهش اکتسابی تیروزین کیناز JAK2 V617F از روش‌های

ARMS-PCR و ASO-RT-PCR استفاده شد. بر این اساس، در ۳۳ نفر (۷۶/۷۴ درصد) از بیماران جهش مورد نظر یافت شد. یافته‌های این مطالعه، با نتایج سایر نقاط ایران هم‌خوانی دارد.

یغمایی و همکاران، جهش نقطه‌ای JAK2 V617F را در ۵۸ بیمار مبتلا به نئوپلاسم‌های Myeloproliferative مزمن ABL-BCR منفی ایرانی ارزیابی نمودند. این جهش، در ۸۶ درصد از بیماران پلی‌سیتمی ورا، ۶۱ درصد از بیماران میلوفیبروز با علت ناشناخته و ۵۳/۳ درصد از بیماران ترومبوسیتمی اولیه یافت شد. در آن مطالعه، برای تعیین جهش از روش AS-RT-PCR استفاده شده بود. علت استفاده از این روش، حساسیت زیاد آن در یافتن جهش بود (۲۱).

پوپک و همکاران، جهش نقطه‌ای JAK2 V617F را در ۱۷۴ بیمار مبتلا به نئوپلاسم‌های Myeloproliferative مزمن ABL-BCR منفی ایرانی ارزیابی نمودند. جهش نقطه‌ای JAK2 V617F در ۶۳/۸ درصد از بیماران مبتلا به نئوپلاسم‌های Myeloproliferative مزمن ABL-BCR منفی ایرانی یافت شد. این جهش، در ۸۲ درصد از بیماران پلی‌سیتمی ورا، ۵۷ درصد از بیماران مبتلا به ترومبوسیتمی اساسی و ۴۸ درصد از بیماران با تشخیص میلوفیبروز اولیه یافت شد. در مطالعه‌ی پوپک و همکاران برای تعیین جهش، از روش ASO-PCR استفاده شد (۲۲).

پوپک و همکاران، جهش نقطه‌ای JAK2 V617F را در ۶۱۵ بیمار مبتلا به نئوپلاسم‌های Myeloproliferative مزمن ABL-BCR منفی ایرانی ارزیابی نمودند. جهش نقطه‌ای JAK2 V617F در ۲۸/۴ درصد از بیماران مبتلا به نئوپلاسم‌های Myeloproliferative مزمن ABL-BCR منفی ایرانی یافت شد. این جهش در ۳۵/۴ درصد از بیماران پلی‌سیتمی ورا، ۴۵/۱ درصد از بیماران مبتلا به ترومبوسیتمی اساسی و ۱۵/۴ درصد از بیماران با تشخیص میلوفیبروز اولیه و ۴ درصد در سایر گروه‌ها یافت شد (۲۳).

اصغری و همکاران، جهش نقطه‌ای JAK2 V617F را در ۹۱ بیمار مبتلا به نئوپلاسم‌های Myeloproliferative مزمن ABL-BCR منفی ایرانی بررسی کردند. این جهش، در ۷۶ درصد از بیماران پلی‌سیتمی ورا، ۴۵ درصد از بیماران مبتلا به ترومبوسیتمی اساسی و ۶۲/۵ درصد از بیماران با تشخیص میلوفیبروز اولیه یافت شد. در مطالعه‌ی اصغری و همکاران، برای تعیین جهش از روش Real-time PCR استفاده شد (۲۴).

قطاسلو و همکاران، جهش نقطه‌ای JAK2 V617F را در ۶۰ بیمار مبتلا به نئوپلاسم‌های Myeloproliferative مزمن ABL-BCR منفی ایرانی مورد بررسی قرار دادند. این جهش در ۷۶/۷ درصد از بیماران مبتلا به ترومبوسیتمی اساسی و ۲۳/۳ درصد از بیماران با تشخیص میلوفیبروز اولیه یافت شد. در مطالعه‌ی قطاسلو و همکاران، برای تعیین جهش از روش ARMS- PCR استفاده شد (۲۵).

حساسیت تعیین این جهش، در هر دو روش مورد نظر این مطالعه با توجه به اساس آن‌ها که به طور اختصاصی آلل جهش‌دار را تعیین کردندف یکسان بود. با این حال، روش‌های دیگری نیز قابل استفاده می‌باشند (۲۷-۲۶). پیش از شناسایی جهش نقطه‌ای JAK2 V617F تشخیص مشکلات خونی با محدودیت‌هایی مواجه بود و یا به دلیل پیچیده بودن آن، در مراکز محدودی انجام می‌شد. با کشف این جهش، تشخیص بالینی گروهی از بیماری‌های خونی در مراکز مورد نیاز مطابق با معیارهای سازمان بهداشت جهانی تسهیل گردید. روش‌های مولکولی در مقایسه با روش‌های تهاجمی نظیر نمونه‌برداری مغز استخوان بی‌خطر هستند و در کمتر از ۲۴ ساعت، با هزینه‌ی اندک قابل انجام می‌باشند.

تعیین جهش اکتسابی تیروزین کیناز JAK2 V617F در افتراق بیماری‌های خونی کاربرد دارد. گزارش‌های متعددی نشان می‌دهد جهش اکتسابی تیروزین کیناز JAK2 V617F در بیماران مبتلا به لوسمی میلوئیدی مزمن دیده نمی‌شود، اما در طیف وسیعی از بیماری‌های خونی نظیر ترومبوزهای وریدهای احشایی و نئوپلاسم‌های Myeloproliferative ارزش تشخیصی دارد (۳۰-۲۸).

از محدودیت‌های این مطالعه، می‌توان به تعداد اندک بیماران، فقدان سوابق پزشکی، سایر معاینات بالینی و فیزیکی و ضعف سیستم‌های پذیرش در بیمارستان‌ها و مراکز تشخیصی جهت ثبت سوابق پزشکی افراد اشاره نمود.

نتیجه‌گیری نهایی این که جهش اکتسابی تیروزین کیناز JAK2 V617F در طیف وسیعی از بیماران مبتلا به نئوپلاسم‌های Myeloproliferative مزمن ABL-BCR منفی در استان آذربایجان غربی دیده می‌شود. تعیین جهش اکتسابی تیروزین کیناز JAK2 V617F از طریق روش‌های مولکولی ARMS-PCR و ASO-RT-PCR برای تأیید تشخیص بالینی بیماری و مدیریت بیماران و روش‌های درمانی، با هزینه‌های پایین در مدت زمان کمتر، مؤثر می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از گرانت به شماره‌ی ۲۳۸۷-۶۶-۰۱-۱۳۹۵ است که کلیه‌ی هزینه‌های آن توسط معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه تأمین گردید. کلیه‌ی مراحل این طرح توسط کمیته‌ی اخلاق با کد ir.umsu.rec.1395.191 در تحقیقات پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه تأیید شد. از تمامی همکاران شاغل در بیمارستان‌های آموزشی امام خمینی (ره) و شهید مطهری و نیز خانواده‌های محترم بیماران که در این مطالعه مشارکت داشتند، سپاسگزاری می‌گردد.

References

1. James C, Ugo V, Casadevall N, Constantinescu SN, Vainchenker W. A JAK2 mutation in myeloproliferative disorders: Pathogenesis and therapeutic and scientific prospects. Trends Mol Med 2005; 11(12): 546-54.
2. Kaushansky K. On the molecular origins of the chronic myeloproliferative disorders: It all makes sense. Blood 2005; 105(11): 4187-90.
3. Speletas M, Katodritou E, Daiou C, Mandala E, Papadakis E, Kioumi A, et al. Correlations of JAK2-V617F mutation with clinical and laboratory findings in patients with myeloproliferative disorders. Leuk Res 2007; 31(8): 1053-62.
4. Reuther GW. JAK2 activation in myeloproliferative neoplasms: A potential role for heterodimeric receptors. Cell Cycle 2008; 7(6): 714-9.
5. Neet K, Hunter T. Vertebrate non-receptor protein-tyrosine kinase families. Genes Cells 1996; 1(2): 147-69.
6. Orr DW, Patel RK, Lea NC, Westbrook RH, O'Grady JG, Heaton ND, et al. The prevalence of the activating JAK2 tyrosine kinase mutation in chronic porto-splenomesenteric venous thrombosis. Aliment Pharmacol Ther 2010; 31(12): 1330-6.
7. Lippert E, Boissinot M, Kralovics R, Girodon F, Dobo I, Praloran V, et al. The JAK2-V617F mutation is frequently present at diagnosis in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. Blood 2006; 108(6): 1865-7.
8. Zaleskas VM, Krause DS, Lazarides K, Patel N, Hu Y, Li S, et al. Molecular pathogenesis and therapy of polycythemia induced in mice by JAK2 V617F. PLoS One 2006; 1: e18.
9. Sazawal S, Bajaj J, Chikkara S, Jain S, Bhargava R, Mahapatra M, et al. Prevalence of JAK2 V617F mutation in Indian patients with chronic myeloproliferative disorders. Indian J Med Res 2010; 132: 423-7.
10. Meier C, Hoeller S, Bourgau C, Hirschmann P, Schwaller J, Went P, et al. Recurrent numerical aberrations of JAK2 and deregulation of the JAK2-STAT cascade in lymphomas. Mod Pathol 2009; 22(3): 476-87.
11. Bercovich D, Ganmore I, Scott LM, Wainreb G, Birger Y, Elimelech A, et al. Mutations of JAK2 in acute lymphoblastic leukaemias associated with Down's syndrome. Lancet 2008; 372(9648): 1484-92.
12. Alshemmari SH, Rajaan R, Ameen R, Al-Drees MA, Almosailleakh MR. JAK2V617F allele burden in patients with myeloproliferative neoplasms. Ann Hematol 2014; 93(5): 791-6.
13. Bennett M, Stroncek DF. Recent advances in the bcr-abl negative chronic myeloproliferative diseases. J Transl Med 2006; 4: 41.
14. Cervantes F. Modern management of myelofibrosis. Br J Haematol 2005; 128(5): 583-92.
15. Diez-Martin JL, Graham DL, Petitt RM, Dewald GW. Chromosome studies in 104 patients with polycythemia vera. Mayo Clin Proc 1991; 66(3): 287-99.
16. Tefferi A, Vardiman JW. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: The 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms. Leukemia 2008; 22(1): 14-22.
17. Scott LM, Campbell PJ, Baxter EJ, Todd T, Stephens P, Edkins S, et al. The V617F JAK2 mutation is uncommon in cancers and in myeloid malignancies other than the classic myeloproliferative disorders. Blood 2005; 106(8): 2920-1.
18. Sulong S, Case M, Minto L, Wilkins B, Hall A, Irving J. The V617F mutation in Jak2 is not found in childhood acute lymphoblastic leukaemia. Br J Haematol 2005; 130(6): 964-5.
19. Vainchenker W, Kralovics R. Genetic basis and molecular pathophysiology of classical myeloproliferative neoplasms. Blood 2017; 129(6): 667-79.
20. Karimzadeh P, Ghaffari SH, Ferdowsi S, Chahardouli B, Saltanatpouri Z, Einollahi N, et al. Comparisions of ARMS-PCR and AS-PCR for the evaluation of JAK2V617F mutation in patients with non-CML myeloproliferative neoplasms. Int J Hematol Oncol Stem Cell Res 2010; 4(2): 10-3.
21. Yaghmaie M, Ghaffari SH, Ghavamzadeh A, Alimoghaddam K, Jahani M, Mousavi SA, et al. Frequency of BCR-ABL fusion transcripts in Iranian patients with chronic myeloid leukemia. Arch Iran Med 2008; 11(3): 247-51.
22. Poopak B, Mirmongereh H, Pourfathollah A, Sharifian R, Rezvani H, Elahi F, et al . Evaluation of JAK2 V617F mutation in Iranian patients with non-CML myeloproliferative neoplasms. Sci J Iran Blood Transfus Organ. 2009; 5(4): 237-45. [In Persian].
23. Poopak B, Farshdousti Hagh M, Saki N, Elahi F, Rezvani H, Khosravipour G, et al. JAK2 V617F mutation in Iranian patients with myeloproliferative neoplasms: Clinical and laboratory findings. Turk J Med Sci 2013; 43: 347-53.
24. Asghari A, Shahriari Ahmadi A, Basi A, Vkili M, Razavi M, Arabi M, et al. The Association between prevalence of JAK2V617F mutation and blood indicies in groups of patients with myeloproliferative neoplasms in Rasul Akram Hospital. Int J Hematol Oncol Stem Cell Res 2011; 5(4): 10-3.
25. Ghotaslou A, Nadali F, Chahardouli B, Ghasemi A, Abbasian S, Ghaffari K, et al. Frequency of c-MPL and JAK2V617F Mutations in Iranian Patients with Philadelphia-Negative Myeloproliferative Disorders and its Association with Clinical and Laboratory Findings. J Isfahan Med Sch 2014; 32(301): 1487-95. [In Persian].
26. Campbell PJ, Scott LM, Buck G, Wheatley K, East CL, Marsden JT, et al. Definition of subtypes of essential thrombocythaemia and relation to polycythaemia vera based on JAK2 V617F mutation status: a prospective study. Lancet 2005; 366(9501): 1945-53.
27. McClure R, Mai M, Lasho T. Validation of two clinically useful assays for evaluation of JAK2 V617F mutation in chronic myeloproliferative disorders. Leukemia 2006; 20(1): 168-71.
28. McMahon C, Abu-Elmagd K, Bontempo FA, Kant JA, Swerdlow SH. JAK2 V617F mutation in patients

with catastrophic intra-abdominal thromboses. Am J Clin Pathol 2007; 127(5): 736-43.

29. Primignani M, Barosi G, Bergamaschi G, Gianelli U, Fabris F, Reati R, et al. Role of the JAK2 mutation in the diagnosis of chronic myeloproliferative disorders in splanchnic vein thrombosis. Hepatology 2006; 44(6): 1528-34.

30. Colaizzo D, Amitrano L, Iannaccone L, Vergura P, Cappucci F, Grandone E, et al. Gain-of-function gene mutations and venous thromboembolism: distinct roles in different clinical settings. J Med Genet 2007; 44(6): 412-6.

DOI: 10.22122/jims.v35i459.9227 Published by Vesnu Publications

Journal of Isfahan Medical School Received: 22.11.2017

Vol. 35, No. 459, 3rd Week, February 2018 Accepted: 27.12.2017

Acquired Mutation of the Tyrosine Kinase JAK2 V617F in the ABL-BCR-Negative Chronic Myeloproliferative Diseases in a Population of West Azerbaijan Province, Iran

Morteza Bagheri[1], Isa Abdi-Rad[1], Davood Maleki[2], Ali Eishi[2], Nasim Valizadeh[2]

Original Article

Abstract

Background: JAK2 V617F mutation presents in the majority of the ABL-BCR-negative chronic myeloproliferative disorders, nearly all the patients with polycythemia vera, about 50% of cases with essential thrombocytosis, or primary myelofibrosis, and 20% of patients with Philadelphia negative chronic myeloid leukemia. This mutation is an acquired and somatic point mutation and results in cytokine signaling as well as clonal hematopoiesis activation. This study was carried out to evaluate the JAK2 V617F mutation in patients with the ABL-BCR-negative chronic myeloproliferative disorders in the west Azerbaijan Province, Iran.

Methods: 43 patients with the ABL-BCR-negative chronic myeloproliferative diseases entered the study. Peripheral blood samples were obtained for total DNAs and RNAs extraction via standard methods. The JAK2 V617F mutation was tested using amplification-refractory mutation system-polymerase chain reaction (ARMS-PCR) and allele-specific oligonucleotide-real time-polymerase chain reaction (ASO-RT-PCR) methods.

Findings: The frequency of JAK2 V617F mutation was 76.74% (33/43) in our samples using both methods.

Conclusion: Our results indicate that JAK2 V617F mutation is more frequent among patients with the ABL-BCR-negative chronic myeloproliferative diseases in Iranian west Azerbaijani patients. ARMS-PCR and ASO-RT-PCR methods are fast and inexpensive methods to recognize the JAK2 V617F mutation which is useful for management of patients with ABL-BCR-negative chronic myeloproliferative diseases.

Keywords: Myeloproliferative disorders, JAK2 protein tyrosine kinase, Mutation

Citation: Bagheri M, Abdi-Rad I, Maleki D, Eishi A, Valizadeh N. **Acquired Mutation of the Tyrosine Kinase JAK2 V617F in the ABL-BCR-Negative Chronic Myeloproliferative Diseases in a Population of West Azerbaijan Province, Iran.** J Isfahan Med Sch 2018; 35(459): 1785-91.

1- Assistant Professor, Cellular and Molecular Research Center, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran
2- Professor, Cellular and Molecular Research Center, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran
3- Hematooncologist, Department of Hematology and Oncology, School of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran
Corresponding Author: Isa Abdi-Rad, Email: isaabdirad@yahoo.com